

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2001 年 2 月 8 日 (08.02.2001)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 01/08705 A1

- (51) 国際特許分類<sup>7</sup>: A61K 45/00, 31/429, A61P 25/00 (74) 代理人: 長井省三, 外(NAGAI, Shozo et al.); 〒174-8612 東京都板橋区蓮根三丁目17番1号 山之内製薬株式会社 特許部内 Tokyo (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP00/05074
- (22) 国際出願日: 2000 年 8 月 1 日 (01.08.2000) (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願平 11/218309 1999 年 8 月 2 日 (02.08.1999) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 山之内製薬株式会社 (YAMANOUCHI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒103-8411 東京都中央区日本橋本町二丁目3番11号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 岡田 正路 (OKADA, Masamichi) [JP/JP]. 永倉 透記 (NAGAKURA, Yukinori) [JP/JP]. 本曾 哲男 (KISO, Tetsuo) [JP/JP]. 戸谷 充志 (TOYA, Takashi) [JP/JP]. 林 敏 (HAYASHIBE, Satoshi) [JP/JP]; 〒305-8585 茨城県つくば市御幸が丘21 山之内製薬株式会社内 Ibaraki (JP).
- 添付公開書類:  
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: REMEDIES FOR NEUROGENIC PAINS

(54) 発明の名称: 神経因性疼痛治療剤

(57) Abstract: Remedies for neurogenic pains comprising an mGluR1 receptor antagonist for systemic administration. Thus, drugs efficacious in treating various neurogenic pains can be provided.

(57) 要約:

本発明は、mGluR1 受容体拮抗薬を全身投与することからなる神経因性疼痛治療剤に関する。本発明により種々の神経因性疼痛の治療に有効な薬剤を提供することができる。

WO 01/08705 A1

BEST AVAILABLE COPY

WO 01/08705

PCT/JP00/05074

## 明細書

### 神経因性疼痛治療剤

#### 技術分野

本発明は、mGluR1拮抗作用を有する化合物を全身投与することによる神経因性疼痛の治療剤としての新規な医薬用途に関する。

#### 背景技術

神経因性疼痛とは、末梢または中枢神経系の機能異常の結果として生じる難治性疼痛である。神経因性疼痛は外傷、感染、癌、虚血、糖尿病などの代謝障害等によって引き起こされる神経障害により発症する。発症のメカニズムは不明な点が多いが、知覚神経の異常な持続的発火等が原因と考えられている。神経因性疼痛の代表的な症状には、アロディニア、痛覚過敏又は知覚過敏などがある。これらの症状は、“焼け付くような”、“針で刺されるような”又は“電気ショックのような”等と表現される特徴的な痛みを呈する。神経因性疼痛には通常の侵害受容性疼痛に有効である鎮痛剤、特に麻薬性鎮痛薬等は効きにくいことが知られている（The Lancet 353, 1959-1966, 1999）。例えば、モルヒネは侵害性疼痛に対して、強力な鎮痛作用を有するが、神経因性疼痛に対しては、十分な効果を示さないことが知られている。また、このモルヒネによる不十分な鎮痛作用が神経因性疼痛の大きな特徴として診断にも用いられている（医学のあゆみ, 189 (10), 751-755, 1999）。モルヒネが神経因性疼痛に効果がない理由としては、神経障害により神経の機能的、形態的な変化が起こって抑制性ニューロンの変性やオピエイト受容体が減少したためと考えられている（最新 脳と神経科学シリーズ 第6巻 痛みの神経科学 メジカルビュー社 p97, 1997年）。

このように、神経因性疼痛の発生には様々な要素が複雑に関係していると考えられている。これまで、治療法としては、神経ブロックや、脊髄硬膜外電気刺激等の神経外科的治療（医学のあゆみ, 189 (10), 757-762, 1999）、三環系抗うつ薬（臨床と薬物治療 18 (7) 643-646, 1999）、バクロフェンの腰部髄腔内投与（機能的脳神経外科 33 45-49, 1994）等が用いられている。しかしながら、安全で有効な治療法は確立しておらず、神経因性疼痛に有効な治療剤の開発が望まれている。

グルタミン酸は、知覚神経線維にあって脊髄へ情報を伝達する主たる興奮性の伝達

WO 01/08705

PCT/JP00/05074

物質である。脊髄では、グルタミン酸による末梢からの知覚情報をnon-NMDA, NMDAあるいはmGluRsが受容し、さらに上位中枢へと情報を伝えている。神経因性疼痛では、知覚神経の異常な持続的発火が起こっていると考えられている。また、NMDA受容体拮抗薬やAMPA受容体拮抗薬が神経因性疼痛モデルでの閾値低下に有効との報告 (Br. J. Pharmacol., 122, 1478-1482, 1997) がなされている。以上のことから、神経因性疼痛発症時の脊髄では、グルタミン酸の過剰放出が起きていることが推定される。

一方、mGluRsの神経因性疼痛への関与に関しては、以下の報告がなされている。

文献1 (Neuroreport, 9, 731-735, 1998) にはmGluR1およびmGluR5の抗体の、ラット手術前および手術24時間後における局所投与である脊髄腔内投与は、冷覚過敏の形成を抑制したが、機械侵害刺激への反応閾値低下の形成は抑制しなかったことが示されている。

文献2 (Pain, 77, 59-66, 1998) には、mGluR1及びmGluR5拮抗作用を有する Group I antagonist ((S)-4CPG: (S)-4-carboxyphenylglycine)の、ラット手術前(0日)ー手術8日後の期間における一日2回の局所投与である脊髄腔内反復投与は、冷覚過敏の形成を手術4、8日後時点では抑制するが、12、16日後の時点では抑制しない。また機械侵害刺激への反応閾値低下の形成も同様に手術4、8日後時点では抑制するが、12、16日後の時点では抑制しない。一方、手術後8ー11日後の期間の一日2回の脊髄腔内の(S)-4CPGの投与では、いずれの時点でも反応閾値低下に対しては抑制効果を示さなかった。このことからGroup I mGluR1受容体は反応閾値の形成に関与するが、すでに形成されたものの維持には関与していないことが示唆されると考察している。

上記文献1、2の筆者により、神経結紮モデルでのmGluR1/R5拮抗剤、及び抗体の髄腔内投与での予防効果は確認されている。しかしながら、文献2では既に形成された冷覚過敏または機械侵害刺激への反応閾値低下に対するmGluR1/R5拮抗薬の抑制効果はないと結論していることから、これまでは、mGluR1及び/又はmGluR5の拮抗は、正常な痛覚閾値を低下させない効果(予防剤)を有するが、低下した痛覚閾値を正常レベルに戻す改善(治療)効果はないと考えられていた。

また、mGluR1拮抗剤の全身投与による神経因性疼痛の抑制効果については、上記文献1及び2には、開示も示唆もない。

WO 01/08705

PCT/JP00/05074

上記文献 1 及び 2 は、薬剤を髄腔内へ局所投与することにより神経因性疼痛に対する効果を検討している。mGluR1 受容体は、脊髄において侵害性情報の伝達を司っていることが知られていたことから、文献 1 及び 2 における mGluR1/R5 拮抗剤、及び抗体は、髄腔内へ局所投与されたと考えられる。しかしながら、作用点への最も効率的な投与方法である髄腔内への直接投与によっても mGluR1/R5 拮抗剤、及び抗体は、神経因性疼痛の改善効果を示さなかった。

一方、mGluR1 受容体は視床に高発現しており、特に侵害性情報を大脳皮質へ伝達する relay neurons に存在することが報告されている（Neuron, 9, 259-270, 1992; Neurochem. Int., 24, 451-458, 1994）。

そこで、本発明者らは、神経因性疼痛の十分な治療作用を得るには、視床の mGluR1 受容体も遮断することが必要であると考え、脊髄だけでなく脳にも移行させるために全身投与による実験を試みた。

なお、視床の mGluR1 受容体と神経因性疼痛の関連は知られておらず、全身投与による mGluR1 拮抗剤の神経因性疼痛に対する効果を予測できるような示唆は全くない。

#### 発明の開示

本発明の目的は全身投与可能な優れた神経因性疼痛治療剤を提供することである。

本発明者らは上記の課題を達成すべく独自の発想に基づき研究を行ったところ、全身投与することによって、種々の神経因性疼痛のモデルに於いて、mGluR1 拮抗剤が治療効果を示すことを見出し、本発明を完成させた。用いたモデルは、糖尿病による神経障害によって引き起こされる神経因性疼痛モデルである STZ（ストレプトゾトシン）誘発糖尿病モデルマウスおよび圧迫による神経損傷によって引き起こされる神経因性疼痛モデルである L5/L6 脊髄神経結紮ラット（Pain 50, 355-363, 1992）である。これらのモデルを用いて、全身投与による mGluR1 拮抗剤の疼痛閾値に対する作用を検討したところ、これまでの技術水準からは予測できなかった効果、即ち mGluR1 拮抗剤がこれらの痛覚閾値低下を有意に改善する作用（治療効果）を有することを見いだした。

本発明により、薬剤投与による患者への負担や、副作用が軽減でき、より効果の高い神経因性疼痛治療剤を提供することが可能となる。

WO 01/08705

PCT/JP00/05074

本発明について更に説明すると、次の通りである。

mGluR1 拮抗作用を有する化合物の神経因性疼痛を改善する有効量及び製薬学的に許容できる担体を含有する神経因性疼痛の治療に用いるための全身投与用医薬組成物；

好ましくは、神経因性疼痛が糖尿病又は神経の圧迫による神経因性疼痛である医薬組成物；

更に好ましくは、神経因性疼痛が糖尿病による神経因性疼痛である医薬組成物；

更に好ましくは、全身投与の投与方法が、経口投与である医薬組成物。

更に好ましくは、mGluR1 拮抗作用を有する化合物が全身投与で神経因性疼痛の改善効果を発現するのに十分な mGluR1 拮抗作用を有する化合物である医薬組成物；

最も好ましくは、mGluR1 拮抗作用を有する化合物が 6-アミノ-N-シクロヘキシル-N, 3-ジメチルチアゾロ[3, 2-a]ベンゾイミダゾール-2-カルボキサミド、2 塩酸塩、又は (+) -(1R, 2S)-6-アミノ-N-メチル-N-(2-メチルシクロヘキシル)チアゾロ[3, 2-a]ベンゾイミダゾール-2-カルボキサミド、2 塩酸塩から選択される化合物である神経因性疼痛治療剤。

更にまた、mGluR1 拮抗作用を有する化合物が 100  $\mu$ M のグルタミン酸で亢進した PI 産生抑制作用の IC<sub>50</sub> 値が 0.1  $\mu$ M 以下の活性を有する化合物である神経因性疼痛の治療剤に関する。

以下に本発明について更に詳細に説明する。

神経因性疼痛は、外傷、圧迫、感染、癌、虚血などや、或いは糖尿病などの代謝障害等の原因によって神経、神経叢或いは神経周囲軟組織が損傷又は変性する神経障害をきたし、神経障害によって引き起こされる何らかの機能異常による痛覚閾値の低下などの持続する疼痛知覚の異常な状態を意味する。具体的にはアロディニア（無害の機械的刺激又は熱刺激による疼痛知覚）、痛覚過敏（有害な刺激に対する過度の応答）又は知覚過敏（接触に対する過度の応答）が含まれるが、これらに限定されるものではない。

神経因性疼痛の具体的疾患としては、糖尿病性ポリニューロパチー、絞扼性（圧迫性）末梢神経障害、幻肢痛、脳卒中後の視床痛、帯状疱疹後神経痛、抜歯後などの非

WO 01/08705

PCT/JP00/05074

定形性顔面痛、脊髄損傷、三叉神経痛、モルヒネなどの麻薬性鎮痛薬による鎮痛効果が不十分なガン性疼痛などが挙げられる。

また、傷害される神経は、中枢性又は末梢性のどちらであってもよく、神経障害の種類は単一性神経障害であっても、多発性神経障害であっても良い。

改善効果とは、神経が傷害された後に薬剤を投与することにより、神経因性による疼痛を改善する効果であり、更に詳細には低下した痛覚閾値を正常値にまで戻すことにより疼痛を改善する効果である。

全身投与とは、薬剤が循環血中に移行し、全身、殊に脳内へ薬剤が移行できるような投与経路を意味し、例えば経口投与、静脈内投与、直腸投与、筋肉内投与、皮下投与、舌下投与等が挙げられる。

全身投与で神経因性疼痛の改善効果を発現するのに十分な mGluR1 拮抗作用を有する化合物とは、mGluR1 拮抗作用を有する化合物であって、かつ該化合物を神経因性疼痛を発症している患者又は動物に全身投与することにより神経因性疼痛の改善効果を発現する化合物を意味する。mGluR1 拮抗作用を有する化合物であっても、実質的に全身投与可能な量で神経因性疼痛の改善効果を発現しない化合物は、本発明には含まれない。好ましくは 100  $\mu$  M のグルタミン酸で亢進した PI 産生抑制作用の IC<sub>50</sub> 値、好ましくは以下の実験例 1 に記載の方法による IC<sub>50</sub> 値が 0.1  $\mu$  M 以下の活性を有する化合物、更に好ましくは、60 nM 以下の活性を有する化合物である。

全身投与で神経因性疼痛を改善する有効量とは、神経因性疼痛の改善効果を発現するのに十分な活性を有する化合物の投与量が、神経因性疼痛の改善効果を発現する実質的に全身投与可能な量であることを意味する。化合物の投与量は、症状の程度や、化合物の薬物動態、投与方法、投与対象、及び投与対象の年齢、性別等を考慮して決定される。

本発明の神経因性疼痛治療剤の有効成分である mGluR1 拮抗作用を有する化合物は、全身投与で神経因性疼痛の改善効果を発現するのに十分な活性を有する mGluR1 拮抗作用を有する化合物であれば構造は問わず、ペプチド化合物であっても、非ペプチド化合物であってもよい。

このような mGluR1 拮抗剤の例としては、下記の文献又は特許に記載の化合物を挙げることができ、このうち全身投与で神経因性疼痛の改善効果を発現する活性を有する mGluR1 拮抗作用を有する化合物が本発明に含まれる。

WO 01/08705

PCT/JP00/05074

特開平 8-169884 号、特開平 11-189596 号、特願 2000-102893 号、WO 96/15100 号、WO 95/25110 号、WO 98/06724 号、WO 99/26927 号、WO 99/44639 等。

上記化合物は、上記文献に記載された合成方法を参照し、製造することができる。

本発明に用いる化合物又はその塩の 1 種又は 2 種以上を有効成分として含有する製剤は、通常製剤化に用いられる担体や賦形剤、その他の添加剤を用いて調製される。

製剤用の担体や賦形剤としては、固体又は液体いずれでも良く、例えば乳糖、ステアリン酸マグネシウム、スターチ、タルク、ゼラチン、寒天、ペクチン、アラビアゴム、オリーブ油、ゴマ油、カカオバター、エチレングリコール等やその他常用のものが挙げられる。

投与は錠剤、丸剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、液剤等による経口投与、あるいは静注、筋注等の注射剤、坐剤、経皮等による非経口投与のいずれの形態であってもよい。投与量は症状、投与対象の年齢、性別等を考慮して個々の場合に依じて適宜決定されるが、通常成人 1 人当たり、1 日につき 1~1,000 mg、好ましくは 50~200 mg の範囲で 1 日 1 回から数回に分け経口投与されるか又は成人 1 人当たり、1 日につき 1~500 mg の範囲で、1 日 1 回から数回に分け静脈内投与されるか、又は、1 日 1 時間~24 時間の範囲で静脈内持続投与される。もちろん前記したように、投与量は種々の条件で変動するので、上記投与量範囲より少ない量で十分な場合もある。

本発明による経口投与のための固体組成物としては、錠剤、散剤、顆粒剤等が用いられる。このような固体組成物においては、一つまたはそれ以上の活性物質が、少なくとも一つの不活性な希釈剤、例えば乳糖、マンニトール、ブドウ糖、ヒドロキシプロピルセルロース、微結晶セルロース、デンプン、ポリビニルピロリドン、メタケイ酸、アルミン酸マグネシウムと混合される。組成物は、常法に従って、不活性な希釈剤以外の添加剤、例えばステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤や繊維素グルコール酸カルシウムのような崩壊剤、ラクトースのような安定化剤、グルタミン酸又はアスパラギン酸のような溶解補助剤を含有していてもよい。錠剤又は丸剤は必要によりショ糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート等の糖衣、又は胃溶性あるいは腸溶性物質のフィルムで被膜してもよい。

WO 01/08705

PCT/JP00/05074

経口投与のための液体組成物は、薬剂的に許容される乳濁剤、溶液剤、懸濁剤、シロップ剤、エリキシル剤等を含み、一般的に用いられる不活性な希釈剤、例えば精製水、エタノールを含む。この組成物は不活性な希釈剤以外に湿潤剤、懸濁剤のような補助剤、甘味剤、風味剤、芳香剤、防腐剤を含有していてもよい。

非経口投与のための注射剤としては、無菌の水性又は非水性の溶液剤、懸濁剤、乳濁剤を包含する。水性の溶液剤、懸濁剤としては、例えば注射用蒸留水及び生理食塩水が含まれる。非水溶性の溶液剤、懸濁剤としては、例えばプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油のような植物油、エタノールのようなアルコール類、ポリソルベート 80 等がある。このような組成物はさらに防腐剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤、安定化剤（例えば、ラクトース）、溶解補助剤（例えば、グルタミン酸、アスパラギン酸）のような補助剤を含んでいてもよい。これらは例えばバクテリア保留フィルターを通す濾過、殺菌剤の配合又は照射によって無菌化される。また、これらは無菌の固体組成物を製造し、使用前に無菌水又は無菌の注射用溶媒に溶解して使用することもできる。

#### 図面の簡単な説明

図 1 図 1 は STZ 誘発糖尿病モデルに化合物 A (図 A) 及び化合物 B (図 B) を投与した際の反応潜時の延長効果を示したものである。

図 2 図 2 は L5/L6 脊髄神経結紮ラットに化合物 A を投与した際の痛覚閾値の変化を測定したものである。

#### 発明を実施するための最良の形態

次に、実施例により本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

#### 実施例（錠剤の製造）

錠剤は次の成分を用いて製造する：

成 分	用量 (mg/錠剤)
化合物 A	200
セルロース（微結晶）	400
二酸化ケイ素（ヒューム）	10
ステアリン酸	5
合 計 615 mg	



WO 01/08705

PCT/JP00/05074

成分を混合し、圧縮して各重量 615 mg の錠剤を形成する。

本発明の神経因性疼痛閾値低下を改善する作用は、次の様にして評価され、確認されたものである。

#### 実験例 1

本発明に用いる化合物の mGluR1 受容体に対する阻害活性を、2 種類の試験法によって確認した。

##### (試験化合物)

化合物 A (6-アミノ-N-シクロヘキシル-N, 3-ジメチルチアゾロ[3, 2-a]ベンゾイミダゾール-2-カルボキサミド、2 塩酸塩)、及び化合物 B ((+)-(1R, 2S)-6-アミノ-N-メチル-N-(2-メチルシクロヘキシル)チアゾロ[3, 2-a]ベンゾイミダゾール-2-カルボキサミド、2 塩酸塩)を用いて以下の試験を行った。

#### 1. 小脳顆粒球細胞を用いた mGluR1 阻害活性の測定

##### (細胞培養)

生後 7-8 日齢の Wistar 系ラット 7 匹 (日本エスエルシー) より全脳を摘出した後、実体顕微鏡下、L-15 培地 (Gibco) 中で小脳を単離した。単離した小脳をメスで細断し、750 U/ml DNase I (Sigma) を含む 0.25% トリプシン溶液 (Gibco) で 37°C、15 分間、インキュベートした。ウシ胎児血清 (JRH Biosciences) を添加して酵素反応を終了させた後、組織片を遠心分離し上清を吸引除去した。高カリウム培地を 10 ml 加えて、プラスチックメスピペットで 5-6 回ピペッティングを行い、細胞を分散させた。ナイロンメッシュ (40 µm 孔) で細胞分散液をろ過した後、生存細胞数を計数した。高カリウム培地で希釈した後、Poly-L-lysine でコーティングされた 24-well culture plate (住友ベークライト) に、 $8 \times 10^5$  cells/well ずつ播種した。細胞は 37°C、5% CO<sub>2</sub>-95% air の条件下で培養した。

高カリウム培地: BME (Gibco) + 10% 非働化ウシ胎児血清 + KCl 25 mM + 1% ペニシリン/ストレプトマイシン (Gibco)

WO 01/08705

PCT/JP00/05074

(ホスファチジルイノシトール (PI) 加水分解測定)

PI 加水分解アッセイは、Aramori らの方法 (Neuron, 8, 757-765, 1992) を参考に  
して行った。2 日間培養した小脳顆粒細胞に myo-[<sup>3</sup>H]inositol (final 3  $\mu$ Ci/ml) を加え、  
37°C で 1 晩インキュベートしてラベルした。細胞を PBS-LiCl で溶液で 20 分間イン  
キュベートした後、化合物を含む PBS-LiCl 溶液で 20 分間インキュベートした。0.2 M  
PCA を加え反応を停止し、4 °C で 1-2 時間放置した。2N KOH および 100 mM  
EDTA-2Na 溶液を添加後、plate を遠心した (2000 rpm, 5 分)。上清 (1 ml) を Bio-Rad  
AG1-X8 column に添加し、GPI solution (5 mM disodium tetraborate, 60 mM sodium  
formate) で洗浄した後、4 ml の IP3 solution (0.1 M formate, 1 M ammonium formate)  
で溶出した。その溶出液に液体シンチレーター (Aquasol-2) を加え、液体シンチレー  
ションカウンターで測定した。

(結果)

化合物 A の IC<sub>50</sub> 値は 22nM であった。また、化合物 B の IC<sub>50</sub> 値は、2.0nM であ  
った。

これにより、本発明に用いる化合物は、強力な mGluR1 拮抗作用を有することが確  
認された。

なお、上記試験法で得られたデータの確認のため、以下の試験法でも測定を行った。

2. mGluR1  $\alpha$  発現細胞による阻害活性の測定

(細胞培養)

mGluR1  $\alpha$  および mGluR5a を発現させた NIH3T3 細胞は、10 % 透析胎児牛血清、  
100 units/ml、0.1 mg/ml streptomycin sulfate を含む DMEM で培養した。mGluR2, R4,  
R6 および R7 を発現させた CHO 細胞は、10 % 透析胎児牛血清、100 units/ml、0.1  
mg/ml streptomycin sulfate、2 mM グルタミンを含む DMEM で培養した。

(細胞内カルシウム濃度測定)

mGluR5a を発現した細胞を既報 (Nature 383, 89-92, 1996) に従って、蛍光分光  
光度計を用いて細胞内カルシウム濃度を測定した。

(PI 加水分解測定)

<sup>3</sup>H-inositol をあらかじめ取り込ませた mGluR1  $\alpha$  発現細胞を用い、既報 (Nature 383,

WO 01/08705

PCT/JP00/05074

89-92, 1996) に従ってホスファチジルイノシトールの加水分解を測定した。

(細胞内 cAMP 測定)

mGluR2, R6 および R7 を発現した細胞を用い、既報 (Neuron, 8, 169-179, 1992) に従って、IBMX 存在下でフォルスコリン刺激後の cAMP 産生量を cAMP 測定キットにより測定した。

(結果)

mGluR2, R6 および R7 に対しては、化合物 A 100  $\mu$  M までアゴニスト性、アンタゴニスト性ともに認められなかった。mGluR5 に対しては、化合物 A 10  $\mu$  M までアゴニスト性、アンタゴニスト性ともに認められなかった。

従って化合物 A はメタボトロピックグルタメートの他の Group (Group II 及び Group III) に対する作用を有さないことが証明された。

化合物 A は、mGluR1  $\alpha$  に対しては、100  $\mu$  M のグルタミン酸で亢進した PI 産生を用量依存的に抑制し、その IC<sub>50</sub> 値は 24 nM であった。また、化合物 B の IC<sub>50</sub> 値は、1.7 nM であった。

従って 1. で用いた小脳顆粒球細胞を用いた mGluR1 阻害活性の測定方法が本法の代替方法となることが確認された。

#### 実験例 2 (STZ 誘発糖尿病モデル)

実験は既報 (Pharmacol Biochem Behav 39, 541-544, 1991) の一部を改変して行った。4 週齢 ICR マウスに対して STZ を 200 mg/kg 腹腔内投与する。投与 2 週間後の午後に tail pinch test の pre 試験を行い、反応潜時が 3 秒以下の動物についてのみ翌日の実験に供した。薬物は経口投与により負荷し、投与後 45 分で tail pinch test を行った。

なお、STZ を負荷していない正常マウスでは、本試験において平均 6 - 7 秒の反応潜時を示す。今回試験に用いた STZ 負荷マウスは、明らかな痛覚閾値の低下が認められた反応潜時 3 秒以下のものを用いた。

有意差検定は、コントロール群と薬物投与群との間で Steel test を用いた (表中の \*, \*\* は、次の通り。\*p<0.05, \*\*p<0.01 vs コントロール群)。

(結果)

図 1 Fig. A, B に示すように、化合物 A は 30 mg/kg po で、化合物 B は Fig. 2 に

WO 01/08705

PCT/JP00/05074

示すように、10 mg/kg po で有意に反応潜時の延長を示した。

これにより、mGluR1 拮抗作用を有する化合物が、糖尿病による神経因性疼痛の治療効果を有することが確認された。

### 実験例 3 (L5/L6 脊髄神経結紮ラット)

実験は既報 (PAIN 50, 355-363, 1992) の一部を改変して行った。SDラットを用い、ペントバルビタール麻酔下で左側腰神経 (L5およびL6) を絹糸で結紮した。術後7日目に以下の試験を実施した。

薬物を経口投与し、45 分後に von Frey hair (VFH) test を行い、機械侵害刺激に対する痛覚閾値を求めた。測定は左右の後肢で実施した。

なお、擬手術ラットの痛覚閾値は、左右差はなく、17-20 g (log (g) : 1.23-1.30) であり、L5/L6 脊髄神経結紮ラットの手術側足で機械侵害刺激に対する痛覚閾値の低下が認められた。

有意差検定は、Dunnet 法を用い、左右それぞれの足でコントロール群と薬物投与群との間で行った (表中の\*\*, \*\*\*は、次の通り。 \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001 vs コントロール群)。

#### (結果)

VFH test での結果を図 2 に示す。化合物 A は、30 mg/kg po より、手術側足の閾値低下を改善した。

これにより mGluR1 拮抗作用を有する化合物が神経圧迫による神経因性疼痛の治療効果を有することが確認された。

上記実験例の結果 mGluR1 に選択的且つ強力な拮抗作用を有する化合物が、種々の神経因性疼痛の治療剤として有用であることが確認された。

以下に本発明に用いた化合物 A, B の製造例を示す。

製造例 1 6-アミノ-N-シクロヘキシル-N, 3-ジメチルチアゾロ[3, 2-a]ベンゾイミダゾール-2-カルボキサミド、2 塩酸塩 (化合物 A)

標記化合物は、WO99/44639 の製造例 1 記載の方法により合成できる。

N-シクロヘキシル-N, 3-ジメチル6-ニトロチアゾロ[3, 2-a]ベンゾイ

WO 01/08705

PCT/JP00/05074

ミダゾール-2-カルボキサミド (5.35 g) の THF (80 ml) - メタノール (30 ml) 溶液に室温下、ヒドロサルファイトナトリウム (12.5 g) の水溶液 (50 ml) を加えて同温にて 12 時間攪拌した。次いでこれに濃塩酸 (10 ml) を加えて 1 時間加熱環流した。次いで減圧下、THF、メタノールを留去し、これを水で希釈した後、28% アンモニア水で中和した。酢酸エチルで抽出した後、水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、溶媒を減圧留去した。残留物をカラムクロマトグラフィー (溶出液; クロロホルム: メタノール = 20:1) で精製し、さらにこれを塩酸塩とした後、メタノール-酢酸エチルより再結晶することにより標記の化合物 (3.78 g) を淡褐色結晶として得た。

NMR: (DMSO- $d_6$ , TMS 内部標準)

$\delta$  : 8.11(d, 1H), 7.84(d, 1H), 7.41(dd, 1H), 4.94(br), 3.80-4.20(br, 1H), 2.94(s, 3H), 2.71(s, 3H), 1.50-1.85(m, 7H), 1.22-1.40(m, 2H), 1.02-1.18 (m, 1H).

MS(FAB): 343(M+1).

#### 製造例 2 (化合物 B)

(+) - (1R, 2S) - 6-アミノ-N-メチル-N-(2-メチルシクロヘキシル)チアゾロ [3, 2-a] ベンゾイミダゾール-2-カルボキサミド・2 塩酸塩

(+) - (1R, 2S) - N-メチル-N-(2-メチルシクロヘキシル)チアゾロ [3, 2-a] ベンゾイミダゾール-2-カルボキサミド (2.2 g) の濃硫酸 (22 ml) 溶液に氷冷下、発煙硝酸 (0.28 ml) を加えて同温にて 30 分間攪拌した。反応溶液を氷水に注ぎ、28% アンモニア水で中和、析出物を濾取することにより (1R, 2S) - N-メチル-N-(2-メチルシクロヘキシル) - 6-ニトロチアゾロ [3, 2-a] ベンゾイミダゾール-2-カルボキサミドを得た。これを製造例 1 と同様にすることにより標記の化合物 (242 mg) を得た。

$[\alpha]_D^{25} = +17.08^\circ$  (c 0.24, EtOH).

NMR (DMSO- $d_6$ , TMS 内部標準)

$\delta$  : 9.16(s, 1H), 8.15(s, 1H), 7.81(d, 1H), 7.42(dd, 1H), 4.85(br), 4.25-4.38(m, 1H), 3.26 (s, 3H), 1.30-2.35(m, 9H), 1.01(d, 3H).

MS(FAB): 343(M+1).

WO 01/08705

PCT/JP00/05074

**産業上の利用可能性**

本発明によれば、mGluR1 拮抗作用を示す化合物は、全身投与で種々の神経因性疼痛での痛覚閾値低下を改善する作用を有し、投与による患者への負担が軽く、副作用の少ない神経因性疼痛の治療剤として有用である。

WO 01/08705

PCT/JP00/05074

## 請求の範囲

1. mGluR1 拮抗作用を有する化合物の神経因性疼痛を改善する有効量及び製薬学的に許容できる担体を含有する神経因性疼痛の治療に用いるための全身投与用医薬組成物。
2. 神経因性疼痛が糖尿病又は神経の圧迫による神経因性疼痛である請求の範囲 1 記載の医薬組成物。
3. 神経因性疼痛が糖尿病による神経因性疼痛である請求の範囲 2 記載の医薬組成物。
4. 全身投与の投与方法が、経口投与である請求の範囲 1 記載の医薬組成物。
5. mGluR1 拮抗作用を有する化合物が全身投与で神経因性疼痛の改善効果を発現するのに十分な mGluR1 拮抗作用を有する化合物である請求の範囲 1 記載の医薬組成物。
6. mGluR1 拮抗作用を有する化合物が 6-アミノ-N-シクロヘキシル-N, 3-ジメチルチアゾロ[3, 2-a]ベンゾイミダゾール-2-カルボキサミド、2 塩酸塩、又は (+)-(1R, 2S)-6-アミノ-N-メチル-N-(2-メチルシクロヘキシル)チアゾロ[3, 2-a]ベンゾイミダゾール-2-カルボキサミド、2 塩酸塩から選択される化合物である請求の範囲 1 記載の医薬組成物。

WO 01/08705

PCT/JP00/05074

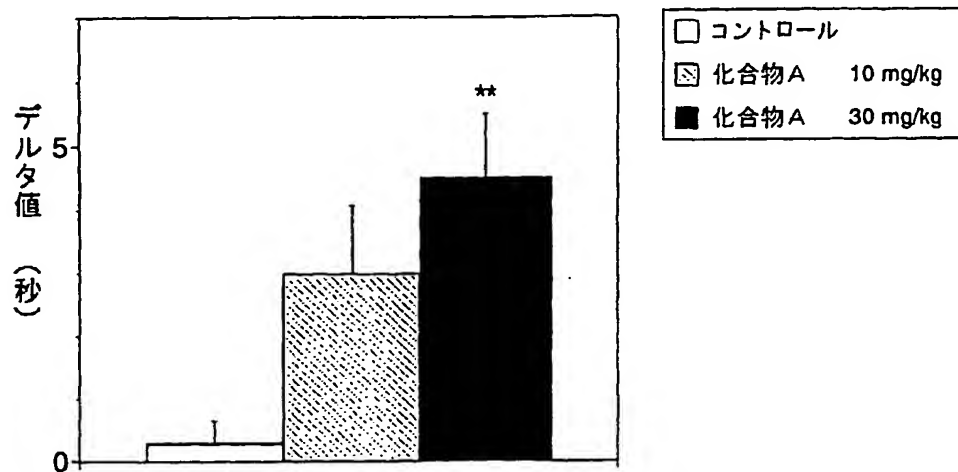


図 A

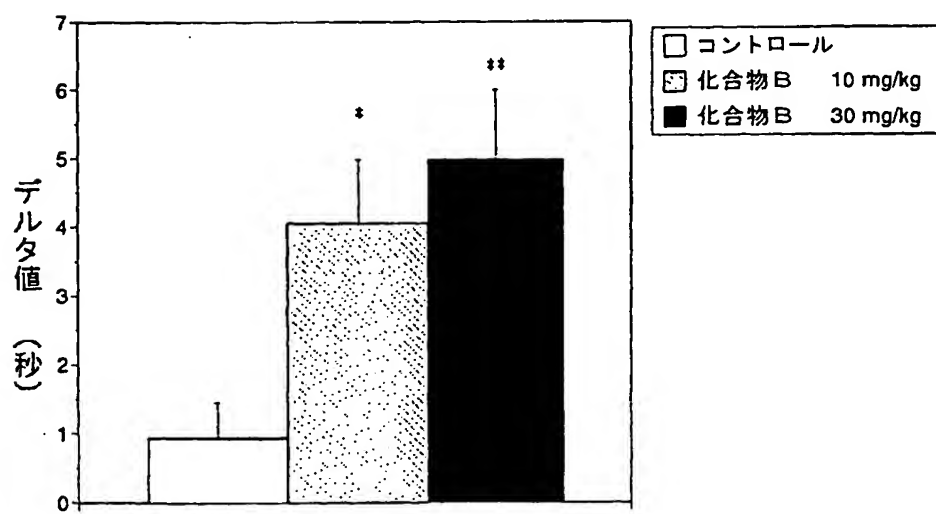


図 B

図 1



WO 01/08705

PCT/JP00/05074

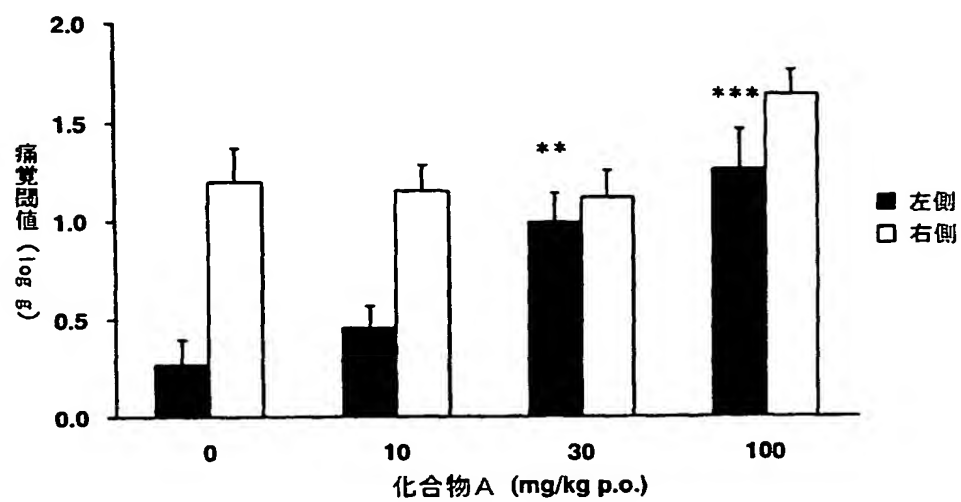


図 2

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/05074

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> A61K45/00, 31/429, A61P25/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> A61K45/00, 31/429, A61P25/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2000
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2000	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2000

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN)	BIOSIS (STN)
REGISTRY (STN)	EMBASE (STN)
MEDLINE (STN)	

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
XY	SALT, T.E. et al., 'The function of metabotropic excitatory amino acid receptors in synaptic transmission in the thalamus : studies with novel phenylglycine antagonists', <i>Neurochemistry International</i> (1994) Vol.24, No.5, pp.451-8 Full text, especially p.455, left column, lines 20 to right column, line 15	1-5
Y	NUEGEBAUER, V. et al., 'Role of metabotropic glutamate receptor subtype mGluR1 in brief nociception and central sensitization of primate STT cells', <i>Journal of Neurophysiology</i> (January 1999) Vol.82, No.1, pp.272-282, Full text, especially, p.272, left column, lines 31-33; Fig. 4A	1-5
Y	FISHER, Kim. et al., 'Intrathecal administration of the mGluRcompound, (S)-4CPG, attenuates hyperalgesia and allodynia associated with sciatic nerve constriction injury in rats.', (1998) Vol.77, No.1, pp.59-66, Full text, especially, p.65, left column, lines 1-10	1-5
EA	WO, 99/44639, A1 (YAMANOUCI PHARMACEUTICAL CO., LTD.),	6

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
19 October, 2000 (19.10.00)

Date of mailing of the international search report  
31 October, 2000 (31.10.00)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/05074

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	10 September, 1999 (10.09.99), Full text; especially production example 1 (Family: none)	
EA	JP, 11-292764, A (Mitsui Chemicals, Ltd.), 26 October, 1999 (26.10.99), Full text; especially, Claim 4 (Family: none)	1-5
A	JP, 11-189596, A (YAMANOUCHI PHARMACEUTICAL CO., LTD.), 13 July, 1999 (13.07.99), Full text (Family: none)	1-6

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JPO0/05074									
<p>A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))</p> <p style="text-align: center;">Int. Cl<sup>7</sup> A61K45/00, 31/429, A61P25/00</p>											
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))</p> <p style="text-align: center;">Int. Cl<sup>7</sup> A61K45/00, 31/429, A61P25/00</p>											
<p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの</p> <p>日本国実用新案公報 1926-1996年          日本国公開実用新案公報 1971-2000年          日本国登録実用新案公報 1994-2000年          日本国実用新案登録公報 1996-2000年</p>											
<p>国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)</p> <p>CAPLUS (STN) BIOSIS (STN)          REGISTRY (STN) EMBASE (STN)          MEDLINE (STN)</p>											
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">引用文献の カテゴリー*</th> <th style="width: 70%;">引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th style="width: 20%;">関連する 請求の範囲の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">XY</td> <td>SALT, T.E. et al, 'The function of metabotropic excitatory amino acid receptors in synaptic transmission in the thalamus: studies with novel phenylglycine antagonists', Neurochemistry International(1994)第24巻、第5号、pp451-8 全文、特に455頁左欄第20行-右欄第15行</td> <td style="text-align: center;">1-5</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Y</td> <td>NUEGEBAUER, V. et al, 'Role of metabotropic glutamate receptor subtype mGluR1 in brief nociception and central sensitization of primate STT cells', Journal of Neurophysiology (1999年1月) 第82巻、第1号、pp272-282, 全</td> <td style="text-align: center;">1-5</td> </tr> </tbody> </table>			引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号	XY	SALT, T.E. et al, 'The function of metabotropic excitatory amino acid receptors in synaptic transmission in the thalamus: studies with novel phenylglycine antagonists', Neurochemistry International(1994)第24巻、第5号、pp451-8 全文、特に455頁左欄第20行-右欄第15行	1-5	Y	NUEGEBAUER, V. et al, 'Role of metabotropic glutamate receptor subtype mGluR1 in brief nociception and central sensitization of primate STT cells', Journal of Neurophysiology (1999年1月) 第82巻、第1号、pp272-282, 全	1-5
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号									
XY	SALT, T.E. et al, 'The function of metabotropic excitatory amino acid receptors in synaptic transmission in the thalamus: studies with novel phenylglycine antagonists', Neurochemistry International(1994)第24巻、第5号、pp451-8 全文、特に455頁左欄第20行-右欄第15行	1-5									
Y	NUEGEBAUER, V. et al, 'Role of metabotropic glutamate receptor subtype mGluR1 in brief nociception and central sensitization of primate STT cells', Journal of Neurophysiology (1999年1月) 第82巻、第1号、pp272-282, 全	1-5									
<p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列举されている。 <span style="margin-left: 50px;"><input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</span></p>											
<p>* 引用文献のカテゴリー</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの</p> <p>「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</p> <p>「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)</p> <p>「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</p> <p>「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>の日の後に公表された文献</p> <p>「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</p> <p>「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</p> <p>「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</p> <p>「&amp;」 同一パテントファミリー文献</p> </div> </div>											
<p>国際調査を完了した日 19. 10. 00</p>		<p>国際調査報告の発送日 31.10.00</p>									
<p>国際調査機関の名称及びあて先</p> <p>日本国特許庁 (ISA/JP)          郵便番号100-8915          東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>		<p>特許庁審査官 (権限のある職員) 森井 隆信</p> <p style="text-align: right;">4C 2938</p> <p>電話番号 03-3581-1101 内線 6460</p>									

## 国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPO0/05074

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	文、特に第272頁左欄第31-33行、図第4 A	
Y	FISHER, Kim. et al, 'Intrathecal administration of the mGluR compound, (S)-4CPG, attenuates hyperalgesia and allodynia associated with sciatic nerve construction injury in rats.', PAIN(1998)第77巻、第1号、pp59-66、全文、特に第65頁左欄第1-10行	1 - 5
E A	WO, 99/44639, A1 (山之内製薬株式会社) 10.9月. 1999 (10.09.99) 全文、特に製造例1 (ファミリーなし)	6
E A	JP, 11-292764, A (三井化学株式会社) 26.10月. 1999 (26.10.99) 全文、特に請求項4 (ファミリーなし)	1 - 5
A	JP, 11-189596, A (山之内製薬株式会社) 13.7月. 1999 (13.07.99) 全文 (ファミリーなし)	1 - 6

This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REPERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images  
problems checked, please do not report the  
problems to the IFW Image Problem Mailbox**